

## **Efeito de diferentes doses de ANA e BAP na multiplicação *in vitro* de crisântemo (*Dentratheuma grandiflora*).**

**Marco Locarno<sup>1</sup>; Gabriel Mascarenhas Maciel<sup>1</sup>; Vanisse de Fátima Silva<sup>1</sup>, Tales Antônio Amaral<sup>2</sup>; Moacir Pasqual<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Eng. Agr°. Pos-graduação em Fitotecnia/UFLA, Professor UNIPAC Barbacena/MG; <sup>2</sup>UFLA, Departamento de Fisiologia Vegetal, <sup>3</sup> Eng. Agr° Dr., Professor Dep. De Agricultura – UFLA. Lavras-MG; C.P 37 – 37200-000 Lavras/MG. email: [marcolocarno@unipac.br](mailto:marcolocarno@unipac.br); [mpasqual@ufla.br](mailto:mpasqual@ufla.br)

### **RESUMO**

O crisântemo é propagado através de estacas, mas têm apresentado sérios problemas por infecção de viroses, ocasionando prejuízos a viveiristas e produtores. A utilização da cultura de tecidos para a obtenção de plantas matrizes sadias com o objetivo de melhorar a produção. A combinação de tipo e concentração de reguladores de crescimento é fundamental para o desenvolvimento *in vitro*. O objetivo do trabalho foi avaliar as diferentes concentrações de BAP e ANA no crescimento *in vitro* do crisântemo. O meio de cultura básico foi o MS acrescido de ANA (0; 0,5 e 1,0 mg/L) e BAP (0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg/L) em todas as combinações possíveis. O delineamento foi o inteiramente casualizado. Com relação à influência das doses de BAP no crescimento da parte aérea, pôde-se verificar que na maioria dos tratamentos a ausência de BAP conferiu os maiores comprimentos na parte aérea. A ausência de BAP também influenciou o número de brotos nos mesmos tratamentos, T1 (0,0 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP), T5 (0,5 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP) e T9 (1,0 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP).

**Palavras- chave:** Reguladores de crescimento, indução, hormônio

### **INTRODUÇÃO**

O crisântemo é propagado convencionalmente através de estacas (MAY & TRIGIANO, 1991), mas as plantas assim produzidas têm apresentado sérios problemas por infecção de viroses, ocasionando prejuízos aos viveiristas e produtores. A utilização da cultura de tecidos para a obtenção de plantas matrizes sadias com o objetivo de melhorar a produção, torna-se fundamental à redução dos custos de produção e aumento de produtividade (QUERALT et al., 1991).

As auxinas e citocininas são substâncias reguladoras essenciais para o desenvolvimento dos explantes e estão intimamente relacionadas com a divisão celular e o crescimento do meristema. Uma relação elevada de citocinina/auxina é requerida para a indução direta de brotações nos explantes (TAIZ & ZEIGER, 1991). A combinação de tipo e concentração de reguladores de crescimento é fundamental para o desenvolvimento *in vitro* (MALAURE et al., 1991). EVANS et al. (1981) fazem referência ao uso das auxinas AIA ou ANA nas concentrações de 0,01 a 5 mg L<sup>-1</sup> em cultura de tecidos de várias espécies cultivadas produzindo brotações. A biossíntese de auxinas ocorre em ápices jovens (HU & WANG, 1983) e induzem o alongamento celular em raízes e brotos, a formação de raízes adventícias e em altas concentrações podem causar a desorganização do crescimento (PIERIK, 1987).

Levando-se em consideração a grande demanda de crisântemo em nível mundial e nacional, bem como o alto custo de produção das mudas aliado aos problemas fitossanitários, a multiplicação *in vitro* é uma técnica viável no que diz respeito à obtenção de plantas matrizes sadias e que serão utilizadas posteriormente na propagação convencional. O objetivo do trabalho foi avaliar as diferentes concentrações de BAP e ANA no crescimento *in vitro* do crisântemo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA) em Lavras, Minas Gerais. A cultivar utilizada, já se encontrava estabelecida "in vitro". Os explantes se constituíram de microestacas, contendo 2 gemas, oriundas da região mediana. Em cada tubo de ensaio (25 x 150 mm) contendo aproximadamente 15 ml de meio, foi colocada uma microestaca. Esse processo foi realizado em sala asséptica, utilizando câmara de fluxo laminar. O meio de cultura básico utilizado foi o MS (1962), as concentrações de ANA e BAP foram variadas nas seguintes concentrações em 12 tratamentos: T1 (0,0 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP), T2 (0,0 mg/l de ANA e 1,0 mg/l de BAP), T3 (0,0 mg/l de ANA e 2,0 mg/l de BAP), T4 (0,0 mg/l de ANA e 4,0 mg/l de BAP), T5 (0,5 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP), T6 (0,5 mg/l de ANA e 1,0 mg/l de BAP), T7 (0,5 mg/l de ANA e 2,0 mg/l de BAP), T8 (0,5 mg/l de ANA e 4,0 mg/l de BAP), T9 (1,0 mg/l de ANA e 0,0 mg/l de BAP), T10 (1,0 mg/l de ANA e 1,0 mg/l de BAP), T11 (1,0 mg/l de ANA e 2,0 mg/l de BAP), T12 (1,0 mg/l de ANA e 4,0 mg/l de BAP). O meio foi solidificado com 0,7 % de ágar, sendo o pH ajustado para  $5,7 \pm 1$ , utilizando NaOH ou HCl, antes do processo de autoclavagem (121°C, 1 atm, por 20 minutos). Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com 12 tratamentos e 4 repetições e os dados foram tabulados no aplicativo SISVAR (Ferreira,2000). O experimento foi conduzido em sala de crescimento com temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas de luz, com intensidade luminosa de 2500 lux. A avaliação do experimento foi efetuada 30 dias após a instalação, através do número de brotos obtidos, ausência ou presença de raiz, tamanho da planta (cm), e o peso seco das mesmas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à influência das doses de BAP no crescimento da parte aérea, pôde-se verificar que na maioria dos tratamentos a ausência de BAP conferiu os maiores comprimentos na parte aérea. A ausência de BAP também influenciou no número de brotos nos mesmos tratamentos, tratamento 1, tratamento 5 e tratamento 9. O número de brotos foi aumentado com a presença das doses de BAP, sendo que a combinação de BAP e ANA realizada no tratamento 2 resultou em um maior número de brotos (6,16). Dados insatisfatórios foram obtidos a partir da combinação realizada no tratamento 10 onde se utilizou uma proporção de 1:1 de BAP e ANA. O peso seco não foi influenciado por nenhuma das combinações de BAP e ANA, não se diferenciando estatisticamente. Foi verificado que na ausência de BAP ocorreu à formação de raízes.

**Tabela 1-** Comprimento da parte aérea, número de brotos, peso seco e presença ou ausência de raiz de crisântemo cultivado in vitro. Lavras-MG, UFLA, 2007.

Tratamentos	Comprimento parte aérea (cm)	Nº brotos	Peso seco (g)	Presença de raiz*
1	6,25 b	1,41 a	0,0414 a	S
2	1,93 a	6,16 b	0,0396 a	N
3	1,48 a	5,08 b	0,0317 a	N
4	0,98 a	5,75 b	0,0183 a	N
5	5,46 b	1,54 a	0,0451 a	S
6	3,03 a	4,75 b	0,0428 a	N
7	2,33 a	3,58 b	0,0216 a	N
8	0,92 a	3,75 b	0,0157 a	N
9	6,19 b	1,00 a	0,0366 a	S
10	0,06 a	5,87b	0,0263 a	N
11	2,21 a	3,08 a	0,0182 a	N
12	1,33 a	1,00 a	0,0218 a	N

Teste Scott-Knott com a mesma letra na coluna não diferem significativamente a 5%.

\* S – presença; N - ausência

## REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; FLICK, C.E. Growth and behaviour of cell culture. In: THORPE, T.A. (ed.). **Plant Tissue Culture: Methods and applications in agriculture**. Academic Press, New York: p.45-113, 1981.

FERREIRA, D.F. Análises Estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0 In: **45ª Reunião Anual da região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45 2000**, São Carlos. Anais ... São Carlos, SP.p.225-258, Jun 2000.

HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip and culture. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; et al. ed. **Handbook of Plant Cell Culture**. Vol. I: Techniques for propagation and breeding. p.177- 227, New York, Macmillan, 1983..

PIERIK, R.L.M. **In Vitro Culture of Higher Plants**. Dordrecht:Martinus Nyhoff Publisher, 344p, 1987.

MAY, R.A.; TRIGIANO, R.N. Somatic Embryogenesis and plant regeneration from leaves of *Dendrathera grandiflora*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.116, n.2, p.366-371, 1991.

MALAURE, R.S.; BARCLAY, G.; POWER, J.B. et al. The production of novel plants from florets of *Chrysanthemum morifolium* using tissue culture. 1. Shoot regeneration from ray florets and somaclonal variation exhibited by regenerated plants. **Journal of Plant Physiology**, London, v.139, p.8-13, 1991.

MURASHIGE T; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. **Physiol Plant** 15:473–497 (1962).

QUERALT, M.C; BERUTO, M.; VANDERSCHAEGHE, A. et al. Ornamentals. In: DEBERGH, M.C.; ZIMMERMAN, R.H. (ed.). **Micropropagation - Tecnology and Aplication**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p.215-230.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Redwood City, CA: Benjamin/Cummings, Publishing Company, 1991. 559p.